



TITLE:

Amelioration of ischemia-reperfusion injury by human thioredoxin in rabbit lung( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Okubo, Kenichi

---

CITATION:

Okubo, Kenichi. Amelioration of ischemia-reperfusion injury by human thioredoxin in rabbit lung. 京都大学, 1997, 博士(医学)

ISSUE DATE:

1997-03-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/202158>

RIGHT:

氏 名	おお 久 ぼ けん いち 大 久 保 憲 一
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1841 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Amelioration of ischemia-reperfusion injury by human thioredoxin in rabbit lung (ヒトチオレドキシンの家兎肺における虚血再灌流障害の抑制に関する研究)

(主 査)  
論文調査委員 教 授 田 中 絃 一 教 授 山 岡 義 生 教 授 人 見 滋 樹

### 論 文 内 容 の 要 旨

(目的) 虚血再灌流障害は広く臨床的に問題となる病態生理である。肺においてはガス交換能・肺コンプライアンスの低下、血管透過性の上昇による肺水腫の病像を呈する。再灌流障害の病因としてフリーラジカルを含む活性酸素の関与が指摘されている。ヒトチオレドキシシン(hTRX)はチオール基を持ち、還元活性を有するポリペプチドであり、活性酸素還元能を有することが示された。本研究はhTRXの肺虚血再灌流障害に対する抑制効果を測定し、化学発光法による活性酸素を測定しその作用機序を検討した。

(対象と方法) Japanese white rabbitを用い、人工呼吸( $\text{FiO}_2=1.0$ 、一回換気量  $10 \text{ mL/kg}$ 、30回/分、 $\text{PEEP}2\text{cmH}_2\text{O}$ )下に、左肺動静脈・主気管支を肺門で110分間閉塞した後、遮断を解除して90分間再灌流した。実験動物は、1) hTRX 群 ( $n=10$ ): hTRX  $60\text{mg/kg}$  投与、2) NAC 群 ( $n=7$ ): N-acetylcysteine  $150\text{mg/kg}$  投与、3) control 群 ( $n=10$ ): 生理食塩水投与、の3虚血群と4) sham 群 (虚血なし,  $n=6$ ): 生食投与、に分けられた。薬剤は再灌流5分前から60分間持続投与された。再灌流後の肺機能を測定するため、10, 30, 60, 90分に右肺門を5分間遮断し、左肺のみで、動脈血酸素分圧( $\text{PaO}_2$ )、肺動脈圧、最高気道内圧が測定された。90分後に左肺を摘出し湿乾重量比(W/D)が測定され、組織学的検索が行われた。hTRX 群と control 群の各3例で cypridina luciferin 誘導体(MCLA)を用いて活性酸素が測定された。生体内で産生された活性酸素がMCLAと反応し約465nmの光を発する作用を利用したもので、暗室で肺表面からの発光量を測定した。化学発光法による測定結果を比較するために、再灌流時に superoxide dismutase(SOD)投与群( $n=3$ )が追加された。

(結果) 再灌流肺の機能検査で、control 群は sham 群に比べ、 $\text{PaO}_2$  は全ての測定時間で低値で、肺動脈圧は60分・90分後で高く、90分後の湿乾重量比(W/D)は高値を示し、110分間虚血後の再灌流により有意に障害が引き起こされることが示された。虚血群の再灌流後の  $\text{PaO}_2$  は、hTRX 群:  $486 \pm 27$ ,  $350 \pm 63$ ,  $296 \pm 72 \text{ mmHg}$ , NAC 群:  $390 \pm 69$ ,  $257 \pm 50$ ,  $229 \pm 50$ ,  $184 \pm 52 \text{ mmHg}$ , control 群:  $377 \pm 42$ ,  $165 \pm 29$ ,

107±20, 83±11 mmHg で、再灌流後30, 60, 90分で hTRX 群が control 群に比し有意に高値を示した ( $p<0.05$ )。NAC 群と control 群間には有意差はみられなかった。W/D は hTRX 群, NAC 群, control 群で、それぞれ  $7.68\pm0.41$ ,  $8.24\pm0.44$ ,  $9.20\pm0.57$  で、hTRX 群は control 群に比し小さい傾向がみられた ( $p=0.056$ )。肺動脈圧は 3 群間に有意差はみられなかった。組織学的には、control 群では肺胞内に著明な浸出液がみられ、間質は肥厚し、細胞浸潤も多くみられたが、hTRX 群では肺胞内への浸出液は少なく、肺胞構造はよく保たれていた。化学発光法による活性酸素の測定では、hTRX 群は control 群に比べて発光量が少なく、SOD 投与群と同様の発光量であった。

(結論) hTRX は in vivo 家兎モデルでの肺の虚血再灌流障害を抑制した。この効果は NAC より大きいと考えられる。作用機序として、hTRX が活性酸素を消去する可能性が示された。

### 論文審査の結果の要旨

虚血再灌流障害は広く臨床的に問題となる病態生理で、臓器移植後はその発生が不可避である。病因としてフリーラジカルを含む活性酸素の関与が指摘されており、この障害を軽減する試みがなされてきた。本研究は還元活性を有するポリペプチドであるヒトチオレドキシンを用いて、肺の虚血再灌流障害に対する抑制効果を測定し、さらに、化学発光法による活性酸素を測定してその作用機序が検討された。

家兎を左肺門で110分間遮断した後、90分間再灌流再換気し、肺機能の測定が行われた。チオレドキシン投与群は Control 群に比べ、再灌流後の肺の酸素化能の低下を有意に抑制し、肺内水分量が低い傾向を示し、組織学的にも肺胞構造は良好に保たれていた。N-acetylcysteine 投与群では、肺の酸素化能の改善は有意でなかった。ウミホタルルシフェリン誘導体を用いた化学発光法による活性酸素の測定では、チオレドキシン投与群で Control 群に比べて発光量が少なく、ラジカルスカベンジャーである SOD 群と同様の発光量であった。これらの結果から、ヒトチオレドキシンは肺の再灌流障害を抑制し、その作用機序は活性酸素を消去する可能性が示唆された。

以上の研究は、チオレドキシンの再灌流障害抑制作用を証明し、その機序として in vivo の系で活性酸素を測定した初めての研究であり、虚血再灌流の病態生理の解明に寄与すると考えられる。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位申請者は、平成9年1月28日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け合格と認められたものである。